

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-276945

(43)公開日 平成5年(1993)10月26日

(51)Int.Cl. ⁵	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
C 12 N 11/08	E			
C 08 G 77/00		8319-4 J		
C 08 J 7/00	3 0 6	7258-4 F		

審査請求 未請求 請求項の数 1.(全 3 頁)

(21)出願番号 特願平4-112157	(71)出願人 ユニチカ株式会社 兵庫県尼崎市東本町1丁目50番地
(22)出願日 平成4年(1992)4月3日	(72)発明者 戸下 安紀 京都府宇治市宇治小桜23番地 ユニチカ株式会社中央研究所内
	(72)発明者 高塚 旨寛 京都府宇治市宇治小桜23番地 ユニチカ株式会社中央研究所内
	(72)発明者 酒井 慎一 京都府宇治市宇治小桜23番地 ユニチカ株式会社中央研究所内

(54)【発明の名称】 生理活性物質固定化シリコーン成形体の製造法

(57)【要約】

【構成】 シリコーン成形体の表面にプラズマ処理により官能基を導入し、次いで反応性官能基を有する試薬を用いてシリコーン成形体の表面の官能基と生理活性物質とを共有結合させることを特徴とする生理活性物質固定化シリコーン成形体の製造法。

【効果】 本発明によれば、簡便な方法により生理活性物質をシリコーン成形体の表面に固定化できる。また、得られた生理活性物質固定化シリコーン成形体は、シリコーンの有する各種特性と生理活性物質の特性により、医用材料として好適に利用することができる他、化学反応触媒、クロマト担体としても応用できる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】シリコーン成形体の表面にプラズマ処理により官能基を導入し、次いで反応性官能基を有する試薬を用いてシリコーン成形体の表面の官能基と生理活性物質とを共有結合させることを特徴とする生理活性物質固定化シリコーン成形体の製造法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は生理活性物質固定化シリコーン成形体の製造法に関し、詳しくはシリコーン成形体表面に生理活性物質を共有結合により固定したシリコーン成形体の製造法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】従来、材料表面に種々の生理活性物質を導入することにより、生体適合性を有する医用材料が知られている。高分子材料表面に生理活性物質を導入する方法として、材料表面に物理吸着させる方法及び結合試薬により共有結合させる方法がある。物理吸着の場合、吸着した生理活性物質が時間依存的に脱離したり、あるいは導入量が少ない等の問題点を有していた。また共有結合により固定化する場合、物理吸着に比べ、固定化した生理活性物質の脱離性及び固定化量の点では優れているが、材料表面の官能基に制約があり、有効な官能基を持たない材料には導入できず、その官能基を化学反応により導入するために多大な手間及び材料自体の力学的、光学的変質を生じるという問題点を有していた。シリコーンは医用材料に広く使用されているが、材料表面に有効な官能基を有していないため、生理活性物質を化学結合させるためには多大な手間がかかるという問題点を有していた。また、シリコーンは撥水・撥油性を有するために、コーティングして生理活性物質を物理吸着させる方法はコーティングむらが生じやすく、表面を一様に覆うことが難しいという問題点を有していた。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】このように材料表面に生理活性物質を導入する場合、共有結合による固定化が有効であるが、シリコーン表面には共有結合による固定化が困難であった。本発明は簡便な方法によりシリコーン成形体表面に生理活性物質を共有結合により固定化する方法を提供することを目的とするものである。

【0004】

【課題を解決するための手段】本発明者らはこのような課題を解決するために鋭意検討の結果、シリコーン成形体の表面にプラズマ処理を行うことにより官能基を導入し、そのシリコーン成形体の表面の官能基に反応性官能基を有する試薬を用いて生理活性物質を共有結合させることにより生理活性物質固定化シリコーンを得ることを見出し、本発明に到達した。すなわち、本発明はシリコーン成形体の表面にプラズマ処理により官能基を導入し、次いで反応性官能基を有する試薬を用いてシリコ-

ン成形体の表面の官能基と生理活性物質とを共有結合させることを特徴とする生理活性物質固定化シリコーン成形体の製造法を要旨とするものである。

【0005】以下、本発明を詳細に説明する。本発明に用いるシリコーンとしては、一般に知られているポリジメチルシロキサンの他、ポリメチルフェニルシロキサン、ポリメチルビニルシロキサン等の側鎖の異なるポリシロキサンでもよく、ポリシロキサンと他の樹脂との混合物や他の樹脂の成形体表面にポリシロキサンの被膜を形成したものであってもよい。また、成形体の形状としては、シート、フィルム、チューブおよび各種成形法により目的とする形状に成形されたもの等が挙げられる。

【0006】本発明に用いるプラズマ処理はグロー放電処理、コロナ放電処理等の一般に知られている方法でよい。グロー放電処理は減圧下で放電して処理を行う方法であり、その減圧度は任意でよいが、10mm~0.01mmHgが好ましい。またコロナ放電処理は大気圧付近で行われる。プラズマ処理に用いるガスは表面に目的とする官能基を導入できるガスであれば特に制限はない。例えば、

酸素、窒素、アンモニア等の反応性ガス、ヘリウム、アルゴン等の非反応性ガスのいずれのガスを用いてもよく、また、空気のように2種類以上の気体の混合物であってもよい。プラズマ処理に用いるガスは成形体表面に導入される官能基の種類により異なる。特にアミノ基を導入する際には窒素原子を含むガスを用いるとよく、アンモニアを用いるのが好ましい。またプラズマ処理により数種類の官能基が導入されることもあるが、目的の官能基が導入されなければ差し支えない。放電出力は装置能力範囲内で任意でよいが、10~1000Wが好ましい。また処理時間も任意でよいが、1秒から1時間が好ましい。

【0007】本発明に用いる反応性官能基を有する試薬としては、例えば、ジシクロヘキシルカルボジイミドあるいは1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩のカルボジイミド類、グルタルアルデヒド、テレフタルアルデヒド、イソフタルアルデヒド、ジアルデヒドでんぶん等のアルデヒド類、ヘキサメチレンジイソシアート、トリレンジイソシアート、キシリレンジイソシアート、フェニレンジイソシアート等のイソシアート類、塩化アジポイル、塩化イソフタロイル、塩化テレフタロイル、塩化シアヌル等の酸塩化物、ヘキサメチレンチオイソシアート等のポリチオシアート、N、N'-エチレンビスヨードアセトアミド、N、N'-ヘキサメチレンビスヨードアセトアミド等のN、N'-ポリメチレンビスヨードアセトアミド、テトラメチレングリコールのジグリシジルエーテル、ジエチレングリコールのジグリシジルエーテル等のポリエポキシド、無水マレイン酸-メチルビニルエーテル共重合体、無水マレイン酸-エチレン共重合体、無水マレイン酸-ステレン共重合体等のポリカルボン酸無水物、N、N'-

エチレンビスマレイミド等の[ビスマレイミド] N, N'-メチレンビス(メタ)アクリルアミド, N, N'-ヘキサメチレンビス(メタ)アクリルアミド, N, N', N"-トリアクリロイルヘキサヒドロトリアジン等のポリ(メタ)アクリロイル化合物等があげられる。

【0008】本発明に用いる生理活性物質とは生体内の現象に微量で関与し影響を与える物質のことであり、例えば、糖、脂肪、蛋白質の代謝、神経内分泌系、生体組織の成長分化、免疫反応、炎症反応、血液凝固線溶反応、創傷治癒、組織再生の促進因子等に関与する蛋白質、低分子有機化合物等が考えられる。特に血液凝固阻害剤であるヘパリン、アンチトロンビンIII、血小板凝集阻害剤であるプロスタグランジン、線溶活性を有するウロキナーゼ、ストレプトキナーゼ、組織プラスミノゲンアクチベーター(TPA)、ブリノラーゼ、プラスミン、フェニルブタゾン、メフェナム酸、インドメタシン等の生理活性物質を固定化することにより抗血栓性を付与することができる。またフィブロネクチン、ビトロネクチン、コラーゲン、アルギニン-グリシン-アスパラギン酸の配列を有するペプチド等を固定化することにより細胞接着性のハイブリッド型人工材料として有効である。またアミラーゼ、トリプシン、キモトリプシン、アミノアシラーゼ、ガラクトシダーゼ、インペルターゼ、ベクチナーゼ、L-アスパラギナーゼ、グルコースオキシダーゼ、ウリアーゼ、セルラーゼ等の固定化により医薬品・食品工業における化学反応の触媒として有効である。さらに抗原、抗体、酵素阻害剤、ホルモン、補酵素等を固定化したものは、診断薬、クロマトグラフィ担体として有効である。

【0009】生理活性物質とシリコーン成形体との結合方法としては、上記の試薬を用いて水溶液中あるいはシリコーンが溶解しない有機溶媒中で反応させるとよい。反応温度は任意でよいが、0から100℃が好ましく、特に蛋白質を結合させる際には、0から37℃が好ましい。また反応時間は任意でよいが、10分間から48時間が好ましい。

【0010】

【実施例】次に、本発明を実施例により具体的に説明する。

実施例1

2cm角、厚さ2mmのシリコーン(ポリジメチルシロキサン)シートをヤマト科学(株)製プラズマリアクターPR-501A型に入れ、出力300Wとし、アンモニアガスの存在下で10分間プラズマ処理を行った。このシリコーンシートと比較のためのプラズマ未処理のシリコーンシートをそれぞれ1重量%無水マレイン酸-メチルビニルエーテル共重合体アセトン溶液に1時間浸漬した後アセトンで洗浄した。これらのシリコーンシートを1000国際単位/m²のウロキナーゼ水溶液中に24時間浸漬した後、純水で洗浄し、減圧乾燥してウロキナーゼ固定化シリコーンシートを得た。

ゼ固定化シリコーンシート及び比較シートを得た。これらのシートのウロキナーゼ活性を合成基質法(Morita et al. J. Biochem., 82, 1495 (1977))により測定したところ、ウロキナーゼ固定化シートでは37.4国際単位/cm²のウロキナーゼが結合していたのに対し、比較シートは3.1国際単位/cm²の結合(吸着)量であった。また、これらのシリコーンシートのフィブリン溶解活性を金井らの方法(「臨床検査法提要」改訂第27版、金原出版、VI-100)を参照して測定した。すなわち、2mm角の試料片をフィブリン平板上におき37℃で24時間インキュベートした後のフィブリン膜の溶解円の径を測定した。ウロキナーゼ固定化シリコーンは直径1.9cmのフィブリン膜を溶解したのに対し、未処理シリコーンでは直径0.5cmのフィブリン膜を溶解した。

【0011】実施例2

実施例1のウロキナーゼのかわりに0.1mg/mlのストレプトキナーゼを用いて実施例1と同様の方法により処理し、ストレプトキナーゼ固定化シリコーンを得た。このシリコーンシートのフィブリン溶解活性を金井らの方法(「臨床検査法提要」改訂第27版、金原出版、VI-100)を参照して測定した。すなわち、2mm角の試料片をフィブリン平板上におき37℃で24時間インキュベートした後のフィブリン膜の溶解円の径を測定した。ストレプトキナーゼ固定化シリコーンは直径1.5cmのフィブリン膜を溶解した。

【0012】実施例3

外径3mm、内径2mmのシリコーンチューブを長さ5mmにカットしたものを用い、生理活性物質として0.1mg/mlのアミラーゼを用いて実施例1と同様に処理して、アミラーゼ固定化シリコーンを得た。

【0013】実施例4

2cm角、厚さ2mmのシリコーンシートをヤマト科学(株)製プラズマリアクターPR-501A型に入れ、出力300W、導入ガス酸素で2分間プラズマ処理を行った。このシートを10mg/mlの1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩水溶液中に4℃で30分間浸漬し、その後1mgのヒト血清由来フィブロネクチンを加え、24時間攪拌した。このシートを純水で洗浄し減圧乾燥してフィブロネクチン固定化シートを得た。

【0014】

【発明の効果】本発明によれば、簡便な方法により生理活性物質をシリコーン成形体の表面に固定化できる。また、本発明によって得られた生理活性物質固定化シリコーン成形体は、シリコーンの有する各種特性と生理活性物質の特性により、医用材料として好適に利用することができる他、化学反応触媒、クロマト担体としても応用できる。